UNIVERSITÉ DE LAUSANNE — FACULTÉ DE MÉDECINE
INSTITUT D'HISTOLOGIE ET D'EMBRYOLOGIE
DIRECTEUR : PROFESSEUR O. BUCHER

Recherches caryométriques sur l'histophysiologie du rein

II. LE COMPORTEMENT DES SEGMENTS INITIAUX ET INTERMÉDIAIRES DU REIN DE RAT LORS DE SURCHARGE HYDRIQUE

THÈSE

PRÉSENTÉE A LA FACULTÉ DE MEDECINE
DE L'UNIVERSITÉ DE LAUSANNE POUR L'OBTENTION DU GRADE DE
DOCTEUR EN MÉDECINE
PAR

JEAN-ALBERT ANTONIOLI

Médecin diplômé de la Confédération Suisse
Originaire de Sion

SION

IMPRIMERIE GESSLER S.A.
1961

UNIVERSITÉ DE LAUSANNE — FACULTÉ DE MÉDECINE
INSTITUT D'HISTOLOGIE ET D'EMBRYOLOGIE
DIRECTEUR : PROFESSEUR O. BUCHER

Recherches caryométriques sur l'histophysiologie du rein

II. LE COMPORTEMENT DES SEGMENTS INITIAUX ET INTERMÉDIAIRES DU REIN DE RAT LORS DE SURCHARGE HYDRIQUE

THÈSE

PRÉSENTÉE A LA FACULTÉ DE MEDECINE
DE L'UNIVERSITÉ DE LAUSANNE POUR L'OBTENTION DU GRADE DE
DOCTEUR EN MÉDECINE
PAR

JEAN-ALBERT ANTONIOLI

Médecin diplômé de la Confédération Suisse
Originaire de Sion

SION

IMPRIMERIE GESSLER S.A.
1961

UNIVERSITE DE LAUSANNE

FACULTÉ DE MÉDECINE

Le Conseil de la Faculté de Médecine de l'Université de Lausanne, après avoir pris connaissance des rapports favorables de MM. les professeurs Otto Bucher et Michel Dolivo, et sans se prononcer sur les opinions du candidat, autorise l'impression de la thèse intitulée :

Recherches caryométriques sur l'histophysiologie du rein

II. Le comportement des segments initiaux et intermédiaires du rein de rat lors de surcharge hydrique.

présentée par Monsieur Jean-Albert ANTONIOLI, pour l'obtention du grade de Docteur en médecine.

Lausanne, le 11 janvier 1961.

Le Doyen :
G. WINCKLER.

Tiré à part de Biologica Latina, vol. XIII, fasc. 3º - 1960.

Institut d'Histologie et d'Embryologie de l'Université de Lausanne (Suisse)
Directeur: Prof. *O. Bucher*

RECHERCHES CARYOMETRIQUES SUR L'HISTOPHYSIOLOGIE DU REIN

II. *Le comportement des segments initiaux et intermédiaires du rein de rat lors de surcharge hydrique* *) **)

(avec 5 figures dans le texte)

par

JEAN-ALBERT ANTONIOLI

(Reçu le 22 janvier 1960)

I. INTRODUCTION

Le degré d'activité d'une cellule peut se manifester par des variations du volume de son noyau (cf. par exemple HINTZSCHE et TANNER, 1937); en effet, ce volume augmente dans une cellule qui travaille, et BENNINGHOFF (1950) a parlé alors d'un « oedème fonctionnel ». Précisément, la caryométrie permet, en mesurant des tailles nucléaires, d'apprécier les modifications de ces volumes. En 1953, BUCHER préconisa l'application des méthodes caryométriques à l'histophysiologie du rein et suscita ensuite les travaux de BONETTI, DJELALI, GAILLOUD. Il s'agit en fait d'étudier les variations éventuelles de la taille des noyaux dans les divers segments des tubes rénaux afin de détecter les segments qui ont fonctionné dans des conditions déterminées.

GLIMSTEDT et ses collaborateurs (1952-1954) se sont également servi des méthodes caryométriques en limitant leurs investigations au *système collecteur* du rein. Ils ont conclu de leurs recherches que l'urine poursuivait son élaboration dans les tubes collecteurs, sièges d'une réabsorbtion de sodium et d'eau.

Le présent travail se propose d'étudier le comportement des *segments initiaux* et des *segments intermédiaires* du rein de rat lors de surcharge hydrique expérimentale.

(*) Thèse présentée à la Faculté de Médecine de l'Université de Lausanne.
(**) Pour les communications I et III voir *Cl. Gailloud* et *D. Djelali*.

Une hypothèse émise par BACHMANN (1950) complique ce programme. Cet auteur, à la suite de travaux sur la circulation rénale (TRUETA et collaborateurs, 1947), distingue deux regions dans le cortex du rein: la région *souscapsulaire* (qu'il appelle « corticale ») et la région *juxtamédullaire*, distinctes également du point de vue caryométrique, et dans l'organe au repos, et en cas de surcharge fonctionnelle. BACHMANN a uniquement étudié, dans le rein de souris, les segments initiaux dont il a calculé le volume nucléaire moyen. Selon lui, les segments initiaux souscapsulaires ont, dans l'organe non surchargé, des noyaux plus petits que les segments initiaux juxtamédullaires. En cas de surcharge hydrique, cependant, les noyaux des segments initiaux souscapsulaires se gonflent tout d'abord, puis reviennent à leur premier volume, alors que ceux des segments initiaux juxtamédullaires ne varient que peu. En cas de restriction hydrique, les noyaux des segments initiaux souscapsulaires diminuent, tandis que ceux des segments initiaux juxtamédullaires augmentent de volume.

BACHMANN rapproche ses résultats de l'hypothèse de HÖPKER selon laquelle les néphrons juxtamédullaires élaboreraient une urine concentrée et les néphrons souscapsulaires une urine plus diluée.

Cette distinction de deux zones dans la substance corticale du rein intéresse donc non seulement la morphologie mais aussi la physiologie et la clinique. De plus, des recherches caryométriques ultérieures devraient en tenir compte, car il ne serait alors pas indifférent de mesurer des noyaux situés plus ou moins profondément dans le cortex rénal. Il convient, par conséquent, de ne pas négliger les conclusions de BACHMANN et de s'efforcer en premier lieu de retrouver les faits qui les fondent.

II. TECHNIQUE ET MATERIEL D'ESSAI

16 rats de même souche ont été répartis en deux groupes de manière que le poids individuel moyen à l'intérieur du premier groupe soit voisin de celui du second. Une première catégorie d'animaux (*tableau I*) a fourni les témoins (T). Les animaux du second groupe (D = « Diurèse ») ont reçu chaque jour, entre 9 et 17 heures, 4 injections sous-cutanées d'une solution de Tyrode sans glucose, diluée 1:3. Le glucose a été supprimé du Tyrode injecté afin de simplifier les conditions expérimentales; on sait, en effet, que cette substance est réabsorbée activement dans les segments initiaux du rein. La quantité totale journellement administrée équivalait à environ 1/10 du poids de l'animal. Tous les animaux ont bien supporté leur régime. Une partie des animaux a été sacrifiée le soir du premier jour (soit 9 heures après le début des essais), d'où le sous-groupe D_1, l'autre le soir du second jour (soit après 33 heures d'expérience), d'où le sous-groupe D_2.

Le poids de chaque animal a été contrôlé durant toute l'expérience, et les variations de poids ont été calculées globalement pour chaque groupe, puis exprimées en % du poids initial (*tableau II*). Pour les *témoins*, on observe un gain de l'ordre de 3,9 %. En cas de *diurèse*, le premier jour, les animaux du groupe D_1 gagnent 11,2 % de poids. Dans le groupe D_2, le soir du premier jour, le poids augmente de 8,2 %; le matin du second jour cette

TABLEAU I: Vue d'ensemble du matériel utilisé: nombre de rats et nombre de noyaux mesurés dans les segments initiaux et intermédiaires des tubes rénaux, dans les régions souscapsulaires et juxtamédullaires.

groupes d'essais	nombre de rats	nombre de noyaux dessinés			
		rég. souscapusulaire		rég. juxtamédullaire	
		s. initiaux	s. interméd.	s. initiaux	s. interméd.
T	6	1000	1300	1000	1300
D_1	4	900	600	900	600
D_2	6	800	700	800	700
total	16	2700	2600	2700	2600

TABLEAU II: Variations du poids moyen des animaux expérimentés, variations exprimées en % du poids moyen initial constaté entre 8 et 9 heures du premier jour, c'est à dire immédiatement avant le début des essais.

groupes d'essais	premier jour	second jour	
	18 h.	8 h.	18 h.
T			+ 3,9%
D_1	+ 11,2%		
D_2	+ 8,2%	+ 2,7%	+ 5,5%

augmentation n'est plus que de 2,7 % et le soir du même jour elle atteint 5,5 %.

Les rats ont été décapités après narcose légère au chloroforme, leurs reins fixés 36 heures au mélange Carnoy (chloroforme 3 cc + alcool absolu 6 cc + ac. acétique glacial 1 cc), enrobés dans de la paraffine, débités en coupes de 8 μ d'épaisseur et colorés à l'hématoxyline-éosine. La fixation et l'inclusion des organes ainsi que la confection et la coloration des coupes se sont déroulées dans des conditions toujours exactement reproductibles. Les noyaux ont été dessinés à un agrandissement de 2300 fois, planimétrés et répartis statistiquement selon des méthodes décrites dans tous leurs détails par Bucher (1950, 1953 a, 1954).

Dans le présent travail, 10600 noyaux ont été utilisés; 5000 noyaux évalués à titre d'essais préliminaires n'y ont pas été inséres.

L'architecture générale du rein de mammifère a été suffisament décrite dans les traités d'histologie (von Möllendorff 1930, Bucher 1956, Chèvremont 1956); nous l'avons retrouvée chez le rat. De plus, nos observations concordent avec celles de Sauer (1895) et de Mangione (1957) qui ont plus particulièrement étudié le rein de rat.

Chez le rat, sur une coupe transversale du rein, on compte 6-8 glomérules étagés en hauteur entre la capsule et la base des pyramides médullaires. Nous appelons dans notre travail zone souscapsulaire, celle qui se trouve à la hauteur du premier glomérule, et zone juxtamédullaire, celle située près de la limite entre les substances corticale et médullaire. Dans chacune des 2 zones, nous avons dessiné des noyaux dans les parties contournées des segments initiaux et intermédiaires.

Il est assez aisé de différencier histologiquement segments initiaux et segments intermédiaires, qui par ailleurs ne se rencontrent que beaucoup plus rarement dans les préparations. Il faut aussi prendre garde de ne pas dessiner les noyaux de maculae densae, différenciation particulières des segments intermédiaires à proximité du pôle vasculaire du glomérule, ces noyaux étant plus petits. Le risque de confusion entre segments intermédiaires et tubes collecteurs n'existait pas pour nous, puisque nous n'avons dessiné que les parties contournées des segments intermédiaires, tandis que les parties initiales des tubes collecteurs se trouvent dans les irradiations médullaires (pyramides de Ferrein).

III. RESULTATS PERSONNELS

A. Etude des animaux témois.

1. *Segments initiaux*

Afin de comparer entre eux les noyaux des segments initiaux souscapsulaires et ceux des segments initiaux juxtamédullaires, on peut se contenter de calculer dans chaque cas la moyenne arithmétique ou géométrique des surfaces planimétrées; à partir de cette moyenne, et considérant les noyaux comme des sphères, on en détermine facilement le volume moyen (cf. BUCHER et DÉLÈZE, 1955). Cependant, l'étude d'une population par l'analyse de sa seule moyenne ne donne pas une image fidèle de la réalité. Mieux vaut considérer toute la répartition des fréquences des tailles nucléaires. En outre, ainsi que l'on montré entre autres HINTZSCHE (1946) et BUCHER (1950, 1954), la répartition des valeurs mesurées dans un système de classes logarithmiques est plus conforme à la biologie qu'une répartition dans des classes de même largeur. Aussi les courbes seront-elles dessinées dans un système de coordonnées comportant en abcisse les classes de grandeurs nucléaires selon une échelle logarithmique et en ordonnée les fréquences selon une échelle arithmétique.

Peut-on considérer une telle courbe comme une distribution normale? Deux critères, entre autres, permettent de répondre à cette question (LAMOTTE 1948, BUCHER 1953 a, GAILLOUD, 1958):

a) calcul du coefficient β_2 de PEARSON qui doit se trouver voisin de 3 en cas de distribution normale;

b) calcul des fréquences cumulées qui seront reportées sur du papier de probabilité ou transformées en probits et dessinées sur du papier

quadrillé (fig. 2); dans les deux cas, lors d'une distribution normale, les points s'aligneront selon une droite.

Pour autant qu'il s'agisse de distributions normales (ou approximativement normales) et pour autant que la fréquence des valeurs soit suffisament grande, le test χ^2 de PEARSON permettra de juger de la signification statistique des différences existant entre deux distributions (cf. BUCHER, 1959). Ces deux conditions se sont toujours trouvées remplies lors de ce travail. En effet, les courbes empiriques obtenues n'ont qu'un seul sommet (fig. 1). De plus l'application des critères cités ci-dessus confirme qu'il s'agit de distributions normales (fig. 2); il est donc possible d'en calculer les courbes théoriques (fig. 3; pour détails voir BUCHER, 1954).

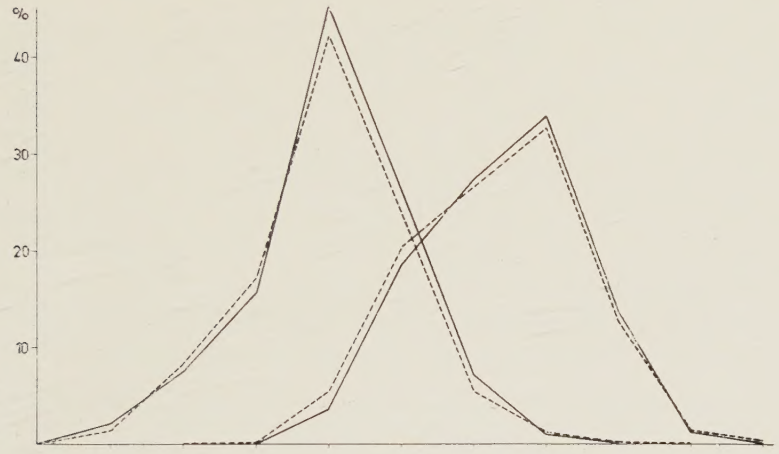

Fig. 1 - Courbes de fréquences des grandeurs nucléaires (courbes empiriques); rein de rat, témoins. En trait plein, noyoux de la region souscapsulaire; en pointillé, de la région juxtamédullaire. Les courbes de droite concernent des noyaux de segments initiaux, celles de gauche, des noyaux de segments intermédiaires. Les fréquences nucléaires (en %) sont portées en ordonnée et les tailles nucléaires en abscisse dont l'échelle est logarithmique.

Nous avons aussi calculé la taille moyenne (valeur des surfaces lues au planimètre) de 1000 noyaux de segments initiaux souscapsulaires et de 1000 noyaux de segments initiaux juxtamédullaires. L'étude de ces moyennes (*tableau III*), avec les limites fiduciaires « moyenne arithmétique $\pm$ deux fois l'erreur moyenne de la moyenne » ($\bar{x} \pm 2\,\sigma_{\bar{x}}$), ne révèle pas de différence significative entre les segments initiaux souscapsulaires et les segments initiaux juxtamédullaires. Ces valeurs oscillent en effet de 131,6- 133,8 mm^2 pour les souscapsulaires et de 130,0-132,2 mm^2 pour les juxtamédullaires; la limite inférieure de l'une chevauche donc sur la limite supérieure de l'autre.

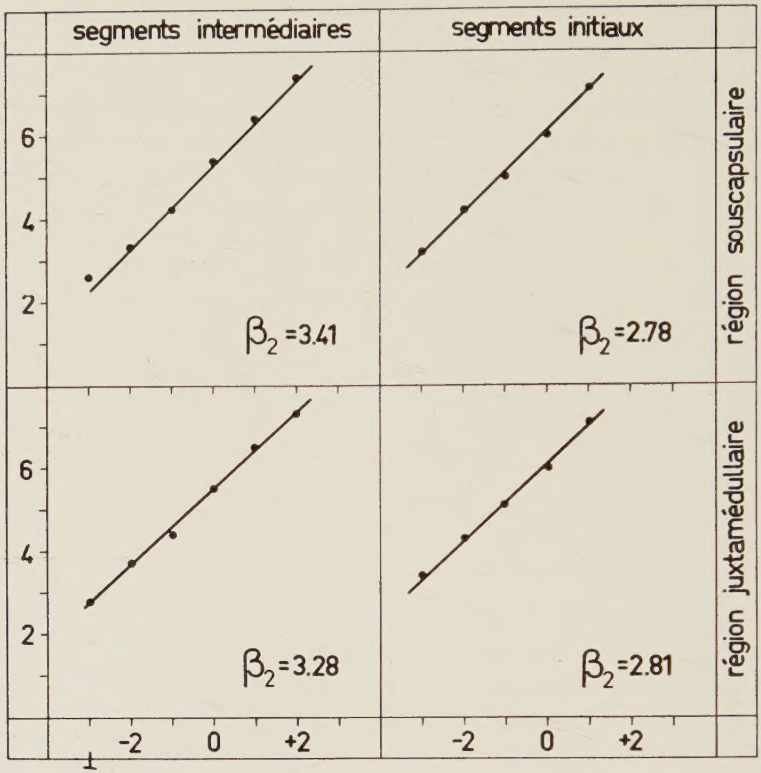

Fig. 2 - Epreuves de normalité des distributions de fréquences nucléaires représentées dans la fig. 1. Transformation des fréquences cumulées en probits; coefficient de PEARSON (β_2). Les probits en question s'alignent sur une droite et les β_2 sont voisins de 3 (voir texte).

TABLEAU III: Paramètres des distributions de fréquences des grandeurs nucléaires (surfaces), chez les témoin, et volumes réels des noyaux.

Paramètres	Segments initiaux		segments intermédiaires	
moyenne arithmétique = $\bar{x}$ (valeurs planimétrées en mm^2)	souscapsul.	juxtaméd.	souscapsul.	juxtaméd.
	132,7	131,1	101,3	99,5
écart-type (σ)	17,54	16,79	12,39	13,22
erreur moyenne de la moyeynne ($\sigma \bar{x}$)	0,55	0,53	0,39	0,42
$\bar{x} \pm 2\sigma \bar{x}$	131,6-133,8	130,0-132,2	100,5-102,1	98,7-100,3
volume réel (en μ^3)	91,42	89,50	60,95	59,42

Fig. 3 - Courbes de fréquences des grandeurs nucléaires (distributions normales). Même matériel et même principe de présentation que pour la fig. 1.

Quant aux volumes nucléaires moyens, ils atteignent 91,42 μ^3 pour les segments initiaux souscapsulaires et 89,50 μ^3 pour les segments initiaux juxtamédullaires; il n'y a qu' une différence de 2,1 % entre ces 2 régions, alors que BACHMANN, chez la souris, indiquait un écart de 8,1 %.

La comparaison des 2 distributions de fréquences des tailles nucléaires dans les régions souscapsulaires et juxtamédullaires, au moyen du test χ^2 de PEARSON, ne révèle pas non plus de différence significative entre elles (voir *tableau IV*).

TABLEAU IV: Comparaison, au moyen du test χ^2 de *Pearson,* des résultats obtenus. Différences entre les régions souscapsulaires (sc) et juxtamédullaires (jm) de chaque groupe. n = degrés de liberté.

groupes d'essais	régions comparées	segments	test χ^2 de Pearson		
			χ^2 (n)	probabilité	différence significative
T	sc + jm	initiaux	0,95 (5)	$0{,}98 > P > 0{,}95$	non
		interméd.	6,51 (4)	$0{,}20 > P > 0{,}10$	non
D_1	sc + jm	initiaux	9,80 (5)	$0{,}10 > P > 0{,}05$	non
		interméd.	3,21 (4)	$0{,}70 > P > 0{,}50$	non
D_2	sc + jm	initiaux	1,86 (5)	$0{,}90 > P > 0{,}80$	non
		interméd.	0,45 (4)	$0{,}98 > P > 0{,}95$	non

2. *Segments intermédiaires*

Les fréquences des tailles nucléaires mesurées dans les segments intermédiaires s'ordonnent également en une distribution normale (fig. 2 et 3). Les segments intermédiaires renferment des noyaux en moyenne plus petits que les segments initiaux, le rapport des volumes moyens étant de 60,2 : 9,5.

L'examen des moyennes arithmétiques des 2600 surfaces mesurées révèle que les segments intermédiaires souscapsulaires sont un peu plus grands que les segments intermédiaires juxtamédullaires (tableau III). La différence entre les volumes atteint ici 4,7% Cependant, le test χ^2 ne permet pas d'y voir une différence significative (tableau IV).

3. *Conclusion*

a) Toutes les distributions enregistrées sont des distributions normales (fig. 2 et 3); les quelques gros noyaux que l'on rencontre occasionnellement n'influencent pas de façon significative le caractère de la courbe.

b) Les segments initiaux renferment toujours des noyaux en moyenne plus grands que les segments intermédiaires.

c) Il n'y a pas de différence statistiquement significative entre les segments initiaux souscapsulaires et les segments initiaux juxtamédullaires (tableau III et IV).

d) Si l'on compare les distributions de fréquences des grandeurs nucléaires dans les segments intermédiaires souscapsulaires et juxtamédullaires au moyen du test χ^2 de PEARSON, nous ne trouvons pas de différence significative entre eux ($0{,}20 > P > 0{,}10$); les résultats obtenus chez les animaux expérimentés (tableau IV) confirment cette opinion.

B. Effet de la surcharge hydrique.

Dans ce chapitre, le calcul des moyennes arithmétiques des grandeurs nucléaires a été abandonné car l'analyse des distributions de leurs fréquences paraît plus judicieuse et plus riche en renseignements.

1. *Segments initiaux*

Lors des expériences de surcharge hydrique, toutes les fréquences de grandeurs nucléaires enregistrées représentent de nouveau des distributions normales (fig. 4). Autour des courbes théoriques oscillent les points empiriques sans qu'il y ait de déviation significative (ces points n'ont pas été dessinés afin de ne pas surcharger le graphique).

Aucune différence significative ne se manifeste, à l'intérieur de chaque groupe d'essai, entre la région souscapsulaire et la région juxtamé-

dullaire: le test χ^2 demeure toujours au-dessous de celui du seuil de probabilité P = 0,05 (tableau III).

Afin de rendre plus facilement compréhensibles les résultats des différents essais, on peut tracer l'ordonnée correspondant au sommet des courbes théoriques (fréquence maximale qui est inversément proportionnelle à l'écart-type). Un déplacement de cette perpendiculaire sur l'abcisse indique une diminution de la taille nucléaire s'il se produit vers la gauche, alors qu'il traduit une augmentation de cette taille s'il se produit vers la droite (fig. 5). Bien entendu, les distributions de chaque groupe seront comparées un peu plus loin à celles des témoins au moyen du test χ^2.

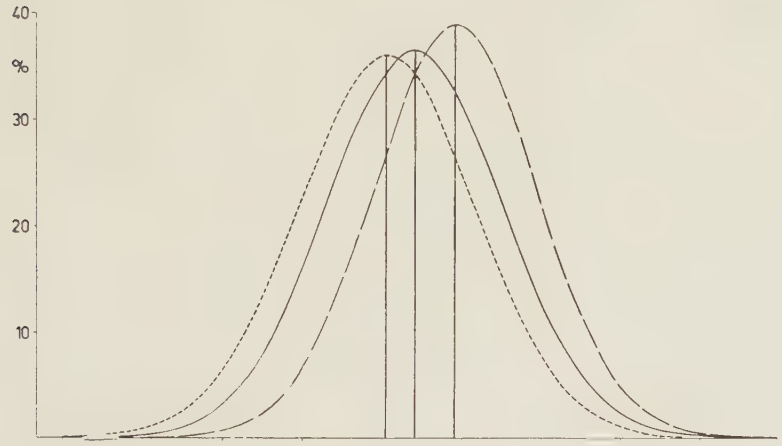

Fig. 4 - Courbes de fréquences des grandeurs nucléaires (distributions normales); noyaux des segments initiaux souscapsulaires. Témoins ———, diurèse 9 heures — — — et 33 heures - - - - -. Les lignes verticales indiquent les ordonnées au sommet des différentes courbes.

Des expériences complémentaires, en marge de celles analysées en détails dans ce travail, ont fourni les renseignements suivants: du bleu de méthylène, incorporé à des injections de Tyrode dilué analogues à celles administrées lors de l'expérience de surcharge hydrique, commence à s'éliminer dans l'urine après un laps de temps d'environ 3 heures; ces injections induisent une diurèse qui augmente durant la journée, atteint un maximum pendant la nuit et diminue ensuite, mais leur effet se prolonge pendant plusieurs jours.

Après 9 heures de *diurèse* (groupe D_1), les segments initiaux contiennent des noyaux plus gros que ceux des témoins: la courbe D_1 a glissé vers la droite (fig. 4 et 5). Le test χ^2 affirme la signification statistique de ce changement. Après 33 heures de diurèse (groupe D_2), on constate une diminution du volume nucléaire, la courbe reculant vers la gauche, en

deça même de la courbe témoin. Le calcul du test χ^2 permet également de considérer ce déplacement comme significatif.

Ces modifications des tailles nucléaires moyennes s'effectuent parallèlement dans les régions souscapsulaires et juxtamédullaires, chaque région faisant l'objet d'une étude séparée (*tableau V* et fig. 5).

TABLEAU V: Comparaison, au moyen du test χ^2 de *Pearson*, des résultats obtenus. Différences entre les expériences (D = « diurèse ») et les témoins (T); segments initiaux et intermédiaires des régions souscapsulaire (sc) et juxtamédullaire (jm). Degrés de liberté = n.

résultats comparés	segments	région	test χ^2 de Pearson		
			χ^2 (n)	probabilité	différence significative
T + D_1	initiaux	sc	25,59 (5)	$P < 0{,}001$	oui
		jm	27,94 (5)	$P < 0{,}001$	oui
	interméd.	sc	20,68 (4)	$P < 0{,}001$	oui
		jm	21,64 (4)	$P < 0{,}001$	oui
D_1 + D_2	initiaux	sc	50 (5)	$P < 0{,}001$	oui
		jm	50 (5)	$P < 0{,}001$	oui
	interméd.	sc	19,65 (4)	$P < 0{,}001$	oui
		jm	15,29 (4)	$0{,}01 > P > 0{,}01$	oui
T + D_2	initiaux	sc	12,30 (5)	$0{,}05 > P > 0.02$	oui
		jm	13,53 (5)	$0.02 > P > 0{,}01$	oui
	interméd.	sc	1,18 (4)	$0.90 > P > 0.80$	non
		jm	3.28 (4)	$0.70 > P > 0.50$	non

2. *Segments intermédiaires*

De nouveau, toutes les courbes de fréquences des grandeurs nucléaires sont des distributions normales. Comme pour les segments initiaux, les variations des volumes nucléaires moyens des segments intermédiaires s'effectuent parallèlement dans les régions souscapsulaire et juxtamédullaire de chaque groupe (*tableau V* et fig. 5).

Aprés 9 heures de diurèse (groupe D_1), les noyaux des segments intermédiaires augmentent de volume et, par conséquent, la courbe glisse vers la droite (fig. 5). Cet écart de la courbe témoin, analogue à celui observé dans les segments initiaux, mais de moindre ampleur, n'en est pas moins statistiquement significatif (tableau V). Après une diurèse de 33 heures (groupe D_2), les noyaux diminuent de volume et leur distribution de fréquences se surperpose presque à celle des témoins: le χ^2 ne

révèle plus aucune différence significative entre elles. Contrairement à ce qui se passe pour les noyaux des segments initiaux du groupe D_2, ceux des segments intermédiaires ne deviennent donc pas plus petits que les noyaux correspondants des témoins.

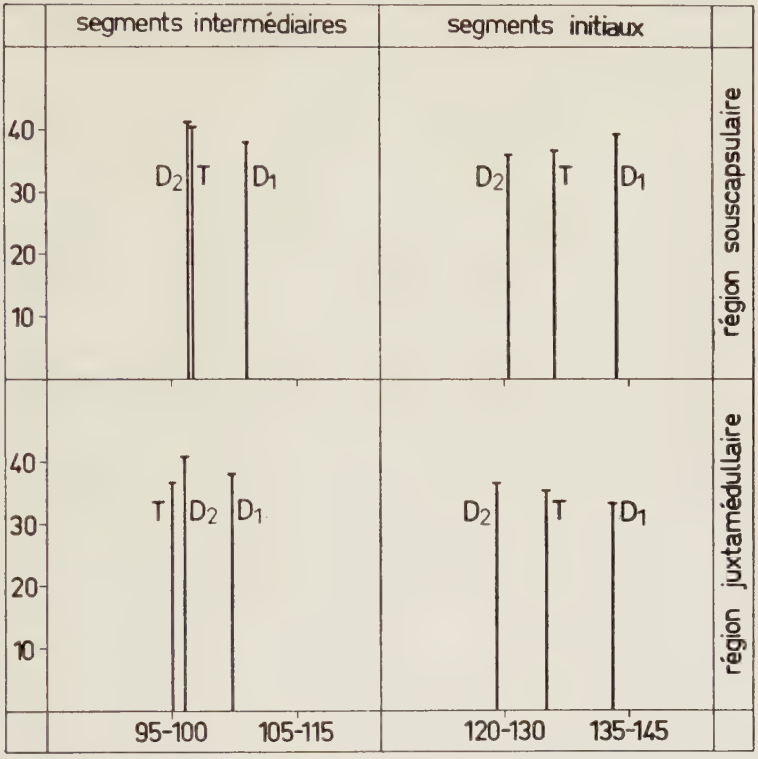

Fig. 5 - Résumé graphique des résultats obtenus, exprimés par le déplacement des ordonnées au sommet des courbes normales (voir fig. 4). En abscisse: classes de tailles nucleaires.

3. *Conclusion*

a) Toutes les courbes de fréquences des grandeurs nucléaires obtenues lors des expériences de surcharge hydrique sont des distributions normales, et pour les segments initiaux, et pour les segments intermédiaires.

b) Dans aucun groupe, il n'a été observé de différence statistiquement significative entre les régions souscapsulaire et juxtamédullaire, ni dans les segments initiaux, ni dans les segments intermédiaires (tableau IV).

c) En cas de *diurèse,* le premier jour (groupe D_1), on note une augmentation de la grandeur nucléaire dans les segments initiaux et dans les segments intermédiaires; le second jour (groupe D_2), les noyaux des segments initiaux deviennent plus petits que ceux des témoins, tandis que les noyaux des segments intermédiaires ont une taille voisine de celle des témoins.

IV. DISCUSSION

A) *Technique et morphologie*

Deux éléments interviennent constamment dans les travaux caryométriques, qui risquent parfois de fausser les résultats obtenus. Il s'agit d'une part du rôle de la technique histologique sur le volume nucléaire, et, d'autre part, de l'influence du nombre de mesures et de leur classification sur la forme des courbes.

SAUER relève en 1895 déjà la rapidité d'apparition d'altérations cadavériques dans les cellules rénales; il remarque de plus que tous les fixateurs n'agissent pas de même sur les segments initiaux et sur les segments intermédiaires. Depuis, de nombreux travaux ont étudié l'influence du mode de fixation sur le volume nucléaire. COVELL (1926) prouve que les quotients nucléo-plasmatiques des cellules rénales varient selon le fixateur utilisé. Dans un récent travail, BUCHER (1959) démontre que, dans le rein humain fixé immédiatement après la mort, les segments initiaux renferment des noyaux plus gros que ceux des segments intermédiaires, alors qu'une fixation tardive entraîne une inversion de ce rapport. Il importe donc, dans un travail de caryométrie, de n'utiliser que des préparations fixées, enrobées et colorées selon un procédé strictement codifié et toujours exactement reproductible.

FREERKSEN (1953) s'élève fort justement contre la publication de courbes basées sur quelques dizaines de mesures seulement. De nombreux auteurs estiment cependant que 100 à 200 noyaux évalués suffisent à la construction d'une courbe judicieuse; et pourtant ces exigences paraissent insuffisantes dans de nombreux cas! En 1952, BUCHER et GATTIKER reprennent l'étude de ce problème (cf. aussi BUCHER 1960). Ils constatent que non seulement le nombre de mesures effectuées, mais encore le choix du système de classes dans lequel on les répartit, influence la forme de la courbe au risque d'y créer des sommets artificiels. Dans notre travail, afin d'avoir une base solide, toutes les courbes présentées reposent sur 500 mesures au moins, réparties dans un système de classes logarithmiques.

Le calcul des volumes nucléaires chez les rats témoins fournit des valeurs qui ne se superposent pas toujours à celles rencontrées dans la littérature. En ce qui concerne les segments initiaux, les chiffres obtenus

dans ce travail (volume nucléaire moyen = 89,50 - 91,42 μ^3) correspondent à celui publié par Covell (= 89,93 μ^3); c'est à dire que, dans les deux cas, le diamètre moyen voisine 5,6 μ. Wermel et Ignatjewa (1953) ont trouvé des noyaux considérablement plus petits. En revanche, Hackensellner et Millesi (1954) ainsi que Eger et Gothe (1954) ont observé des noyaux un peu plus grands, dont le diamètre moyen atteignait 6,2 - 6,3 μ. Sulkin (1949), pour autant que nous interprétions correctement ses chiffres, a rencontré des noyaux encore plus grands (de même Eichner 1959).

Dans les segments intermédiaires nous avons toujours eu affaire à des noyaux plus petits (60,9 - 59,4 μ^3) que dans les segments initiaux, et cela également dans nos essais (fig. 1, 3, 5). Covell par contre est arrivé à un volume moyen de 96,2 μ^3, les noyaux de ses segments intermédiaires dépassant ceux des segments initiaux. Il est vrai que, sur 25 animaux testés par cet auteur, 6 ont des noyaux plus grands dans les segments initiaux et 6 ont des noyaux de volume moyen identique dans les deux segments envisagés. Chez la souris, Bonetti, Bucher, Djelali et Gailloud, ainsi que Freerksen chez le lapin et le cobaye, ont toujours trouvé des noyaux plus petits dans les segments intermédiaires. Ces résultats confirment nos observations.

Toutes nos mesures se répartissent selon des distributions normales, chez les témoins (fig. 2, 3) et chez les animaux expérimentés. Freerksen pour les reins de lapin et de cobaye, Wermel et Ignatjewa (1932) pour le rein humain, Sulkin pour le rein de rat publient des distributions de fréquences de tailles nucléaires où l'on note 2 ou même plusieurs sommets. Or, très souvent, ces courbes reposent sur un nombre restreint de mesures, réparties en plus sur une échelle arithmétique et non logarithmique. Comme nous, Bonetti, Djelai et Gailloud ont eu généralement affaire, chez la souris, à des distributions normales, et dans les segments initiaux, et dans les segments intermédiaires. Hackensellner et Millesi trouvent, eux aussi, une distribution normale des fréquences nucléaires dans les segments initiaux du rein de rat (2400 noyaux mesurés).

Notre étude caryométrique n'a pas permis de déceler une différence entre les néphrons souscapsulaires et les néphrons juxtamédullaires, ni à l'état de fonctionnement habituel, ni lors de surcharge hydrique. Ainsi donc nous ne pouvons pas rejoindre les conclusions de Bachmann pour qui les tailles nucléaires (et l'activité) des segments initiaux des deux régions différaient à l'état normal déjà, et tout particulièrement lors de surcharge fonctionnelle. Le choix de l'animal d'expérience, souris chez Bachmann et rat dans nos essais, explique-t-il cette divergence? Nous ne le croyons pas. Plutôt faudrait-il invoquer des différence de méthodes ou d'appréciation des résultats expérimentaux.

L'observation d'une diminution de volume nucléaire moyen dans les segments initiaux du groupe D_2 peut paraître à première vue assez inattendu. Bonetti (1956) l'a pourtant déjà relevé, et ceci dans des conditions

expérimentales assez voisines des nôtres, dans une étude sur la souris, surchargée en eau de fontaine (administration quotidienne de 4 cc par sonde gastrique). Nos animaux, comme ceux de BONETTI ont donc reçu une quantité importante de liquide (10 % de leurs poids ou plus), relativement pauvre en électrolytes (Tyrode dilué ou eau de fontaine), durant une assenz longue période. Les mensurations de cet auteur ont été effectuées, nos examens complémentaires le soulignent, lors de la seconde phase de la diurèse induite.

De son côté SCHILLER (1959) a donné de l'eau distillée à des rats. Il décrit, après 4 heures, une diminution du volume nucléaire moyen dans les segments initiaux, suivie, après 30 heures, d'une augmentation de ce volume. Ses résultats sont difficiles à discuter, car la réaction du rein, en cas de diurèse provoquée, dépend entre autres du temps, de la quantité et de la qualité du liquide administré. La première observation de SCHILLER (aprés 4 heures déjà) est beaucoups plus précoce que celle de notre groupe D_1 (après 9 heures). Quant à la seconde (après 30 heures), qui concorde dans le temps avec celle de BONETTI et avec nôtre groupe D_2, qui pourrait éventuellement s'en rapprocher par la nature osmotique (hypotonie) du liquide fourni, nous ignorons la quantité d'eau que l'animal a reçue et l'intensité de la diurèse, ce qui rend toute comparaison hasardeuse.

L'importance du travail de SCHILLER réside, nous semble-t-il, et en cela il rejoint les conclusions de notre expérience, dans la mise en évidence de ces modifications pendulaires du volume nucléaire. Il importerait donc de reprendre l'analyse de ce phénomène dans des conditions de surcharge hydrique bien définie, en la complétant par l'établissement de la courbe de diurèse et en ne négligeant pas l'examen précoce, durant les premières heures de l'essai.

B) *Tentative d'interprétation physiologique des résultats*

SMITH (1957) résume ainsi les principales étapes de la formation de l'urine en ce qui concerne l'eau et le sodium:

a) filtration glomérulaire ayant pour résultat un liquide de même composition que le plasma mais ne contenant pas de protéines;

b) réabsorbtion active du cation Na, dans les segments initiaux surtout, mais aussi dans les segments intermédiaires;

c) réabsorbtion passive de l'eau qui suit le sodium; 80% de l'eau est réabsorbée dans les segments initiaux et 15% dans les segments intermédiaires; cette réabsorbtion passive d'eau est obligatoire;

d) il y aurait une réabsorbtion active facultative d'eau lors de certaines circonstances et sous l'effet de l'hormone hypophysaire antidiuré-

tique (ADH); cette réabsorbtion active siégerait en aval du segment initial (Smith pense que ce serait dans le segment collecteur).

Glimstedt et ses collaborateurs tirent de leurs recherches caryométriques sur le système collecteur la conclusion que l'urine y achève son élaboration, notamment par un processus de réabsorbtion active du cation Na, l'eau et l'anion Cl suivant passivement le sodium. Mais il ne lui est pas possible d'y trouver une preuve de la réabsorbtion active d'eau lors d'injection d'ADH.

Gailloud (1958) et Bucher et Gailloud (1958) injectèrent à des souris de la solution de Tyrode (solution non modifiée, donc avec du glucose); la quantité injectée augmente avec le laps de temps séparant l'injection de la fin de l'expérience et varie de 3,0 à 5,5 cc. Ils notent les jours suivant l'expérience un gonflement progressif des noyaux plus accentué dans les segments initiaux que dans les segments intermédiaires et l'interprètent comme le symptôme d'une activité cellulaire accrue dépendant d'un surcroît de réabsorbtion active (Na et glucose).

Nos animaux sont soumis à un apport de liquide important (environ 10% de leur poids, en 9 heures, pour le groupe D_1 et environ 20% de leur poids corporel, en 33 heures, pour le groupe D_2); il s'agit d'une solution hypotonique entraînant une surcharge considérable en eau et une surcharge relative en cations Na (par rapport à leur sodium total, les animaux du groupe D_1 reçoivent en 9 heures un supplément de 12% et ceux du groupe D_2 en 33 heures un supplément de 24%. Que se passe-t-il chez les animaux du groupe D_1, sacrifiés après 9 heures de traitement? Le liquide administré par injection souscutanée commence à être éliminé assez rapidement, environ après 3 heures; la diurèse s'installe, augmente, atteint un maximum nocturne, puis décroît lentement les jours suivants (cf. ci-dessus).

Lors d'un apport de liquide hypotonique, il se produit tout d'abord une dilution du milieu extracellulaire; puis le gradient osmotique entraînant le passage de l'eau vers le milieu intracellulaire, on assiste à une dilution de tous les milieux. Cette dilution générale inhibe la sécrétion d'ADH d'une part et provoque une baisse de la pression oncotique du liquide circulant d'autre part, deux facteurs responsables, avec l'augmentation du volume circulant, d'une diurèse accrue. Cette diurèse se développe très rapidement et s'accompagne d'une réabsorbtion quasi totale des électrolytes jusqu'à ce que l'isotonie soit rétablie. Alors apparaît un oedème tissulaire dû à du liquide isotonique qui reste dans l'espace extracellulaire et qui s'élimine plus lentement dans un second temps (Gamble, 1947).

Les animaux du groupe D_1 on été sacrifiés lors du premier temps de leur diurèse induite par les injections de solution hypotonique. En effet, leur mort est survenue 9 heures après la première injection, à un moment où leur poids moyen présentait une augmentation de 11,2% (tabl. II). On observe alors un gonflement nucléaire dans les segments initiaux et in-

termediaires, symptôme morphologique d'une activité cellulaire intensifiée, signant en l'occurence une réabsorbtion accrue de cations Na. Comme les segments initiaux réabsorbent plus de sodium que les segments intermediaires leurs noyaux augmentent davantage de volume. Les résultats de GAILLOUD et de GAILLOUD et BUCHER sont conformes aux nôtres et illustrent le cas d'une surcharge en liquide isotonique.

Le second jour, dans le groupe D_2, nous constatons un rapetissement de noyaux, plus marqué dans les segments initiaux que dans les segments intermediaires. Le soir du premier jour d'expérience, les animaux de ce groupe accusent une augmentation de poids de l'ordre de 8%, analogue à celle relevée chez les animaux du groupe D_1 avant la fixation des reins. Le matin du second jour, l'accroissement n'est plus que de 2,7 %, signe d'une elimination d'eau nocturne. Au soir de ce second jour, au moment de leur mort, les rats du groupe D_2 malgré l'injection dans la journée d'une quantité de liquide égale à celle de la veille n'augmentent leur poids moyen initial que de 5,5%. Les injections du second jour ont donc une action différente de celle du premier jour: elles s'éliminent plus vite, et avec un travail de réabsorbtion active moindre dans les segments initiaux et intermédiaires. Certes, les nouvelles injections provoquent une filtration glomérulaire accrue (voir ci-dessus), mais que se passe-t-il en aval? Le surprenant rapetissement nucléaire, constaté également par BONETTI et SCHILLER, peut-il être interprété comme symptôme d'une activité cellulaire réduite et traduirait-il alors une fuite urinaire d'électrolytes? Ou faut-il y voir le signe d'une activité cellulaire modifiée? Nos expériences ne nous permettent pas de trancher.

Bien des expériences seront encore à effectuer dans ce domaine pour arriver à une compréhension plus poussée des processus qui se déroulent au niveau des cellules rénales. Des essais sur l'influence d'une restriction hydrique et de l'hormone antidiurétique sont déjà en cours à l'institut d'où sort notre travail. Nos investigations ont la seule prétention d'ajouter une petite pierre à une grande mosaïque dont le dessin n'est encore qu'esquissé.

Il est clair que de tels travaux histophysiologiques ne sont pas possible sans les conseils avisés d'un physiologiste expérimenté, et nous ne voudrions pas manquer d'exprimer au Professeur M. DOLIVO notre gratitude pour ses précieuses suggestions et critiques.

Résumé

Il s'agit dans ce travail d'une étude caryométrique du rein de rat lors d'une surcharge hydrique: plus de 15.000 noyaux ont été mesurés.

Chez les animaux témoins ainsi que chez les animaux des divers essais, les courbes de fréquences des tailles nucléaires des segments initiaux et intermédiaires ont des distributions normales. Les segments initiaux possèdent des noyaux plus grands en moyenne que les segments intermédiaires.

Aucune différence statistiquement significative ne peut être révélée entre les noyaux des régions souscapsulaires et juxtamédullaires, dans les segments initiaux, et dans les segments intermédiaires, que ce soit chez les témoins ou que ce soit chez les animaux expérimentés.

En cas de surcharge hydrique, on assiste le premier jour à une augmentation du volume nucléaire moyen dans les segments initiaux et intermédiaires. Ceci est interprété comme un signe de travail cellulaire accru, dû à une quantité plus grande de sodium activement réabsorbé. Le second jour de surcharge, les noyaux diminuent de volume surtout dans les segments initiaux, où ils deviennent plus petits que chez les témoins. Pour le moment, l'auteur n'a pas d'interprétation à donner quant à la signification de ce comportement.

Riassunto

E' stato effettuato uno studio cariometrico su oltre 15.000 nuclei cellulari del rene del ratto in fase di aumentata diuresi.

Negli animali di controllo, così come in quelli trattati, le curve di frequenza dei volumi nucleari dei segmenti iniziali e intermedi dei tubuli hanno distribuzione normale. I segmenti iniziali hanno in media nuclei più grandi dei segmenti intermedi.

Nessuna differenza statisticamente significativa può essere messa in evidenza tra i nuclei delle zone sottocapsulare e iuxtamidollare nè nei tubuli della porzione iniziale, nè in quelli della porzione intermedia; e ciò sia nei controlli che negli animali trattati.

In caso di aumentata diuresi si assiste, nel primo giorno, ad un aumento del volume nucleare medio nei segmenti prossimali e intermedi dei tubuli. Ciò è interpretato come segno di un aumentato lavoro cellulare dovuto ad una maggiore quantità di sodio attivamente riassorbito. Nel secondo giorno di sovraccarico i nuclei diminuiscono di volume, specie nelle porzioni iniziali dove diventano persino più piccoli che nei controlli. Allo stato attuale non possono essere tratte conclusioni sul significato di tale comportamento.

Resumen

Ha sido efectuado un estudio cariométrico sobre 15.000 nucleos celulares renales de la rata en fase de aumento de diuresis. En los animales de control y en los tratados, la curva de frecuencia del volumen nuclear del segmento inicial e intermedio del tubulo tiene distribución normal. Los segmentos iniciales tienen generalmente nucleos mayores que el segmento intermedio.

No pudo ponerse en evidencia una diferencia estatisticamente significativa entre los nucleos de las zonas subcapsulares y yuxtamedulares en los túbulos de lo porción inicial o en los de la intermedia, tanto en los animales control como en los tratados.

En el caso de aumento de la diuresis se asiste en el primer dia a un aumento del volumen nuclear medio en los segementos proximales e intermedios de los tubulos. Esto es interpretado como signo de un trabajo celular aumentado, debido a una mayor cantidad de sodio reabsorbido activamente. En el segundo dia de sobrecarga hídrica los nucleos disminuyen el volumen, especialmente en las porciones iniciales en las que se hacen menores que en los controles. En el estado actual no pueden derivarse conclusiones seguras sobre el significado de este comportamiento.

Summary

The present paper deals with a caryometric study of the rat kidney done at the time of augmented water diuresis; more than 15,000 nuclei were measured.

In the control animals, as well as in the experimental animals, the nuclear size frequency curves obtained from the proximal and distal convoluted tubules are normal distributions. The proximal convoluted tubules have nuclei of larger mean size than the distal convoluted tubules.

No statistically significant difference can be revealed between the nuclei of the sub-capsular and juxta-medullary zones, neither in the proximal tubules nor in the distal tubules, whether in the controls or in the experimental animals.

In the case of augmented water diuresis, an increase of the mean nuclear volume in the proximal and distal convoluted tubules is observed the first day. This is interpreted as a sign of increased cellular work, due to a greater quantity of sodium actively reabsorbed. The second day of water overloading, the nuclear volumes diminish, especially in the proximal convoluted tubules, where they become even smaller than the controls. At this time, we have no interpretation of the significance of this behaviour.

Zusammenfassung

Die vorliegende Arbeit berichtet über karyometrische Untersuchungen, die an über 15000 Zellkernen von Rattennieren bei gesteigerter Diurese vorgenommen worden sind. Bei den Kontrolltieren und ebenso auch bei den Versuchstieren zeigen die Frequenzkurven der Kernvolumina in den Haupt- und Mittelstücken eine normale Verteilung; die Kerne der Hauptstücke sind durchschnittlich grösser als die der Mittelstücke.

Zwischen den Kernen der subcapsulären und denen der juxtamedullären Zone findet sich weder in den Haupt-, noch in den Mittelstücken sowohl der Kontroll- als auch der Versuchtstiere ein statistisch signifikanter Unterschied.

Bei Wasserbelastung beobachtet man am ersten Versuchstag eine Zunahme des mittleren Kernvolumens in den Haupt- und Mittelstücken, was als Zeichen einer vermehrten Zellarbeit infolge erhöhter Rückresorption von Natriumjonen gedeutet wird. Am zweiten Belastungstag nehmen die Kerne an Grösse ab, besonders in den Hauptstücken, in denen sie sogar kleiner werden als bei den Kontrolltieren. Für dieses Verhalten hat der Verfasser zur Zeit noch keine Erklärung.

Bibliografia

BACHMANN K. D.: *Über die Nierenfunktion bei Durst und Diurese.* Ärztl. Forsch., 4, 577-583, 1950.

BENNINGHOFF A.: *Funktionelle Kernschwellung und Kernschrumpfung.* Anat. Nachr. 1, 50-51, 1950.

BONETTI D.: *Comportamento morfologico e grandezza nucleare nel tubulo contorto prossimale del nefrone in condizione di diuresi aumentata.* Boll. zool., 23, 639-661, 1956.

BUCHER O.: *Zur Methodik karyometrischer Untersuchungen an Gewebekulturen.* Mikroskopie, 5, 124-131, 1950.

— *Karyometrische Untersuchungen an Gewebekulturen. VII. Ist die an Bindegewebekulturen in vitro ermittelte Kerngrössenfrequenzkurve eine Normalverteiluna?* Z. Zellforsch., 38, 455-471, 1953a.

— *Qu'est ce que la caryométrie? Buts et applications de la mesure des noyaux et de leurs rapports dimensionnels.* Bull. Micr. appl., 3, 113-127, 1953b.

— *Caryometric studies of tissue cultures.* Int. Rev. Cytol., 3, 69-111, 1954.
— *Histologie und mikroskopische Anatomie des Menschen.* Berne, (2ème éd.), 1956.
— *Karyometrische Untersuchungen an menschlichen Nieren, sowie einige allgemeine Bemerkungen über Kernmessungen an Nieren.* Z. mikr.-anat., Forsch., 65, 180-199, 1959.
— *Beitrag zu den karyometrischen Untersuchungen an Nieren.* Z. mikr.-anat. Forsch., 66, 408-422, 1960.
BUCHER O. et DÉLÈZE J.: *Recherches complémentaires sur les cellules binuclées (foie et épithélium de transition).* Anat. Anz., 102, 1-20, 1955.
BUCHER O. et GAILLOUD Cl.: *Zum Verhalten der Zellkerne bei verschiedenen Funktionszuständen der Nierenkanälchen.* Bull. Schweiz. Akad. Med. Wiss., 14, 254-272, 1958.
BUCHER O. und GATTIKER R.: *Karyometrische Untersuchungen an Gewebekulturen. V. Beitrag zur statistischen Verarbeitung des Zahlenmaterials.* Z. Zellforsch., 37, 56-88, 1952.
CHÈVREMONT M.: *Notions de cytologie et d'histologie.* Desoer, Liège, 1956.
COVELL W.P.: *Quantitative cytological studies on the renal tubules.* Anat. Rec., 34, 61-73, 1926.
DJELALI D.: *Recherches caryométriques sur l'histophysiologie du rein, III.* Z. mikr.-anat. Forsch., 66, 96-110, 1959.
EGER W. und GOTHE H.D.: *Experimentelle Untersuchungen über die Beziehungen der Hypophyse zu den Nebenschildrüsen und gleichseitige Berücksichtigung der Nebennieren und Nieren.* Z. ges. exp. Med., 124, 310-325, 1954.
EICHNER D.: *Kernmessungen an Schilddrüse und Niere der Ratte unter experimentellen Bedingungen.* Z. mikr-anat. Forsch., 66, 85-95, 1959.
FREERKSEN E.: *Ein neuer Beweis für das rhythmische Wachstum der Kerne durch vergleichende volumetrische Untersuchungen an den Zellkernen von Meerschweichen und Kaninchen.* Z. Zellforsch., 18, 362-399, 1933.
GAILLOUD Cl.: *Recherches caryométriques sur l'histophysiologie du rein, I.* Arch. Anat. Histol. Embryol., 41, 51-76, 1958.
GAMBLE J.L.: *Physiological information gained from studies on the life raft ration.* Harwey Lectures, 42, 247-273, 1947.
GLIMSTEDT G. and LUNDH B.: *The influence of some fixatives on the volumes of the nuclei in the cells of the collecting tubules of the kidney in the rat.* Kungl. Fysiogr. Sällsk. Förhandl., 23 no. 3, 1953.
GLIMSTEDT G., JONSSON N. and ROSMAN H.R.: *The collecting tubules of the kidney in the rat at water overloanding.* Kungl. Fysiogr. Sällsk. Förhandl., 24, no. 1, 1954.
HACKENSELLNER H.A. und MILLESI H.: *Beitrag zum Problem der kompensatorischen Nierenvergrösserung nach einseitiger Nephrektomie.* Z. mikr.-anat. Forsch. 60, 205-211, 1954.
HINTZSCHE E. und TANNER E.: *Über Beziehungen zwischen Nahrungsaufnahme und Kerngrösse des Darmepithels.* Z. mikr-anat. Forsch., 42, 165-192, 1937.
HINTZSCHE E.: *Statistische Probleme aus der Kerngrössenforschung.* Experientia, 1, 103-110, 1954.
— *Biologische Statistik durch materialgerechte Klasseneinteilung.* Schweiz. Z. Volkswirtsch. u. Statistik, 82, 433-443, 1946.
HÖPKER W.: *Zur Physiologie und Klinik der Nierenfunktionsstörungen.* Arztl. Forsch., 3, 321-338, 1949.
JACOBJ W.: *Über das rhythmische Wachstum der Zellen durch Verdoppelung ihres Volumens.* Roux Arch. Entw. mechan., 106, 124-192, 1925.
LAMOTTE M.: *Introduction à la biologie quantitative.* Masson, Paris, 1948.
MANGIONE F.: *Sulla differenziazione segmentale del tubulo prossimale del nefrone.* Arch. Ital. Anat. Embriol., 62, 1-54, 1957.
VON MÖLLENDORFF W.: *Der Exkretionsapparat. Handbuch der mikroskopischen Anatomie des Menschens.* VII/L, Berlin, 1930.
SAUER H.: *Neue Untersuchungen über das Nierenepithel und sein Verhalten bei der Harnabsonderung.* Arch. mikr. Anat., 46, 109-146, 1895.
SCHILLER E.: *Karyometrische Untersuchungen über den Einfluss von Gewebestäuben auf die Nebenniere (Demonstration).* Verh. Anat. Ges., 1959.

SMITH H.W.: *The Kidney. Structure and Function in Health and Disease*. N. Y., 1951
— *Principles of renal physiology*. New York, 1956.
SULKIN N.M.: *Cytologic studies of the remaining kidney following unilateral nephrectomy in the rat*. Anat. Rec., 105, 95-111, 1949.
TRUETA J., BARCLAY A.E., DANIEL P.M., FRANKLIN K.J. and PRICHARD M.M.L.: *Studies on the renal circulation*. Charles C. Thomas, Springfield, 1947.
WERMEL E.M. und IGNATJEWA Z.P.: *Studien über Zellengrösse und Zellenwachstum. I. Über die Grössenvariabilität der Zellkerne verschiedener Gewebsarten*. Z. Zellforsch., 16, 674-688, 1932.
— *Studien über Zellengrösse und Zellenwachstum. III. Über die Veränderungen der Kerngrösse bei Vergiftungen*. Z. Zellforsch., 17, 476-504, 1933.